



УДК 616.36-002.17-08

DOI: 10.22141/2308-2097.52.3.2018.141846

Степанов Ю.М.¹, Ягмур В.Б.¹, Саленко А.В.²

¹ ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро, Україна

² Державний заклад «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро, Україна

Гліциризинова кислота: патофізіологічні аспекти формування фіброзу та ефективність у лікуванні захворювань печінки

For cite: Gastroenterologia. 2018;52(3):150-156. doi: 10.22141/2308-2097.52.3.2018.141846

Резюме. В оглядовій статті наведені сучасні дані щодо чинників виникнення та розвитку фіброзу печінки. Цей стан обумовлений надмірним накопиченням позаклітинного матриксу, продуцентом якого є здебільшого печінкові зірчасті клітини, які при активації набувають можливості продукувати патологічний колаген I та III типів. Відкладання фібрилярної тканини та колагену у просторі Діссе призводить до появи базальної мембрани в епітелії синусоїдів, унаслідок чого відбувається їх капіляризація. Портальна гіпертензія поглиблюється виникненням ендотеліальної дисфункції та патологічною продукцією вазоконстрикторів. Подальше прогресування фіброзу печінки є фактором ризику виникнення цирозу та навіть гепатоцелюлярної карциноми. Наведені дані щодо досліджень антифібротичних властивостей гліциризину — препарату рослинного походження. Майже 40-річна історія офіційного вивчення довела його протизапальні, протівірусні, антифібротичні властивості. Дія гліциризину відбувається завдяки впливу на імунні клітини, гальмуванню апоптозу гепатоцитів та прискоренню апоптозу патологічно активованих зірчастих клітин. Вибірковою дією на фактори транскрипції можна пояснити протиканцерогенний ефект препарату при тривалому перебігу вірусних гепатитів.

Ключові слова: фіброз; гліциризин; апоптоз; печінкові зірчасті клітини; колаген; канцерогенез; огляд

Фіброз печінки — особливий стан, що розвивається у відповідь на її тривале ушкодження. За печінкового фіброгенезу паренхіма органа зазнає фундаментальної перебудови, що характеризується прогресивним накопиченням екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ), а при поглибленні патологічного процесу — розвитком цирозу — вузлової регенерації печінкової паренхіми [1].

Патофізіологія фіброзу

Фіброгенез обумовлений постійним пошкодженням печінки через численні механізми та може розглядатися як надмірна реакція у відповідь на запалення та некроз гепатоцитів. Прогресування від нормального стану печінки до її цирозу потребує 15–20 років безперервного ураження, у результаті чого кількість ЕЦМ збільшується у сім разів [2]. Саме ця тканина витісняє нормальну паренхіму, призводить до функціональної недостатності печінки та перебудови системи крово-

постачання, результатом чого є виникнення портальної гіпертензії (ПГ).

Основним джерелом позаклітинного матриксу є міофібробласти — фібробластоподібні клітини з контрактильними здатностями різного походження, які після активації починають синтезувати ЕЦМ. Якщо в нормі сполучну тканину печінки здебільшого становить колаген IV та VI типу, то в процесі фіброгенезу міофібробласти продукують патологічний фібрилярний колаген I, III типу та фібронектин. Відкладання цих елементів в ендотелії та просторі Діссе призводить до так званої капіляризації синусоїдів, появи в них базальної мембрани, що в нормі відсутня, та розвитку ПГ [3]. Зміни в ендотелії синусоїдів є чинником ендотеліальної дисфункції, що робить внесок у поглиблення ПГ шляхом підвищення синтезу вазоконстрикторів (ендотеліну та тромбоксану А) та пригнічення продукції вазодилаторів (нітриту азоту) [4].

© «Гастроентерологія» / «Гастроэнтерология» / «Gastroenterology» («Gastroenterologia»), 2018

© Видавець Заславський О.Ю. / Издатель Заславский А.Ю. / Publisher Zaslavsky O.Yu., 2018

Для кореспонденції: Саленко Альбіна Володимирівна, кандидат медичних наук, асистент кафедри терапії, кардіології та сімейної медицини ФПО, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», вул. Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044, Україна; e-mail: albina77@3g.ua, контактний телефон +38(050) 582 64 23.

For correspondence: Albina Salenko, PhD, Assistant at the Department therapy, cardiology and family medicine of faculty of postgraduate education, State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Vernadsky st., 9, Dnipro, 49044, Ukraine; e-mail: albina77@3g.ua; phone +38 (050) 582 64 23.

Пул міофібробластів в основному (80–96 %) становлять активовані печінкові зірчасті клітини (ПЗК) (рис. 1). Крім ПЗК міофібробластну активність проявляють також портальні міофібробласти: вони відповідальні за фіброгенез при холестатичних захворюваннях, тому що розташовані навколо біліарних та портальних трактів, та міофібробласти, що мають кістково-мозкове походження [5]. В експериментальних дослідженнях продемонстровано можливість переходу мезотеліальних клітин на поверхні печінки в міофібробласти, наприклад, при ушкодженні гепатоцитів тетрахлоретаном (так званий мезотеліально-епітеаліальний перехід (МЕП)) [6]. Також обговорюють можливість того, що самі гепатоцити та холангіоцити здатні через епітеліально-мезенхімальне трансдиференціювання (ЕМТ) перетворюватися у міофібробласти, але можливість їх у подальшому секретувати ЕЦМ ще не доведена [7–9].

У підтримці міофібробластів у постійному активованому стані для безперервного фіброгенезу беруть участь численні механізми, що сприяють некрозу та апоптозу гепатоцитів, виникненню запалення, виділенню медіаторів, цитокінів та хемокинів.

Схема цих подій така: тривалий вплив патогенів (вірусів, токсинів, жовчних кислот, автоантитіл) індукує ураження гепатоцитів та їх апоптоз; у відповідь запускається реакція, що призводить до запалення та депозиції позаклітинного матриксу. По суті, це захисна реакція, що спочатку відмежовує здорову тканину від уражених ділянок, але при тривалій дії патогенів лізис ЕЦМ відстає від його утворення та дієздатна паренхіма замінюється елементами нефункціонуючої сполучної тканини. У результаті паракринної дії цитокінів/хемокинів активуються різноманітні сигнальні шляхи, що викликають проліферацію, міграцію та диференціацію мезенхімальних клітин-попередників (так званих перицитів та резидентних фібробластів) у фіброгенні фібробласти та підтримують їх активований стан [11, 12].

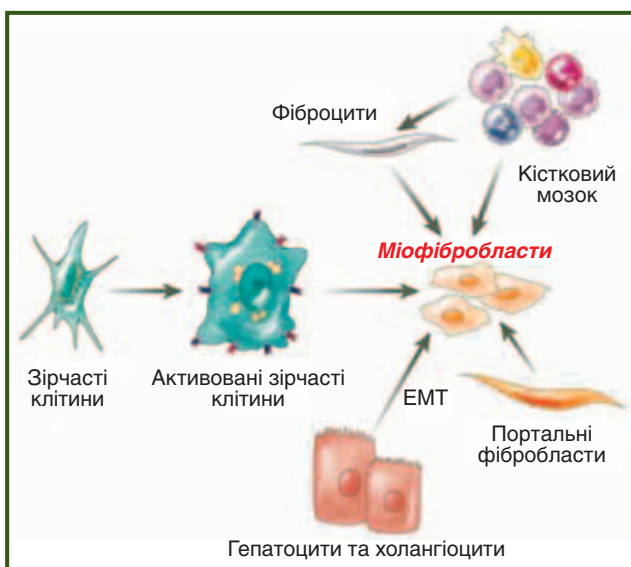


Рисунок 1 — Клітини, що входять в пул міофібробластів — клітин, здатних продукувати елементи сполучної тканини [10]

Антифібротичні стратегії полягають або у пригніченні проліферації ПЗК, або у стимуляції їх апоптозу, крім того, доцільною є боротьба з наслідками активації фібробластів, а саме зниження продукції колагену та прискорення його деградації [13].

Вплив похідних солодки на загальні механізми фіброгенезу

Локриця (*Glycyrrhiza glabra*) добре відома в традиційній китайській медицині. У Китаї вона зветься гансао — «солодка трава», про її властивості згадується в трактаті Шень-Нуна ще близько двох тисячоліть до нашої ери. Локриця містить понад 20 тритерпеноїдів і близько 300 флавоноїдів. Серед них основні терапевтичні властивості мають гліциризин (ГЛ) та 18 β -гліциризинова кислота, наступні за значущістю — ліктиригенін, лікохалкон А, лікохалкон Е, глабридин. Як у китайській фармакопеї, так і в традиційній європейській медицині серед складових солодки здебільшого використовується саме ГЛ. В організмі він гідролізується на фармакологічно активні метаболіти — гліциризинову кислоту, що пригнічує 11 β -гидроксистероїд дегідрогеназу та інші ензими, що залучені в метаболізм кортикостероїдів. Різні дослідження виявили такі його властивості, як противірусна та антимікробна активність, здатність гальмувати розвиток раку тощо [14]. Внутрішньовенні інфузії ГЛ почали використовуватись у Японії для лікування хронічних гепатитів та цирозів печінки ще з 1977 року.

Численними, у тому числі експериментальними дослідженнями доведено багатогранну дію ГЛ на різні шляхи фіброгенезу. Він бере участь як у пригніченні активації ПЗК, так і в деградації ЕЦМ. Стимули, що надходять унаслідок апоптозу клітин, слугують одним із факторів збудження ПЗК та запуску фіброгенезу. Апоптоз паренхімальних клітин відіграє важливу роль в ініціації та підтримці активації ПЗК. У той же час апоптоз саме ПЗК — корисна подія, оскільки при зменшенні кількості цих клітин відбувається пригнічення печінкового фіброзу. Таким чином, позитивним є як пригнічення апоптозу паренхіматозних клітин, так і активація апоптозу зірчастих клітин [15]. Низкою експериментальних робіт показано, що під дією ГЛ зменшується експресія каспаз, особливих протеаз, що відіграють центральну роль у механізмі апоптозу [16]. Каспази розподіляються на прозапальні і проапоптотичні залежно від їх участі в цих клітинних програмах. Вони синтезуються як інертні зимогени у вигляді проферментів і після одержання апоптичних стимулів протеолітично розщеплюються та перетворюються в ефекторні каспази-3, -6 і -7. Bo Liang, Xiao-Ling Guo з колегами досліджували дію ГЛ на апоптоз ПЗК. Для виявлення апоптотичних клітин ними використовувався TUNEL-метод. Порівнювались тканини експериментальних щурів, що зазнали дії CCl_4 . У групі після лікування ГЛ кількість TUNEL-позитивних (апоптотичних) клітин була значно зменшена порівняно з групою без лікування, що доводило зниження експресії розщепленої каспази-3 як типової ознаки апоптозу. Екс-

пресія α -SMA — маркера активованих ПЗК — та мРНК була значно підвищеною після дії CCl_4 та знижувалась після терапії ГЛ [17]. Інші роботи довели зменшення апоптозу шляхом пригнічення ГЛ фактора транскрипції — білка p53. Цей білок акумулюється в гепатоцитах при різних дифузних захворюваннях печінки та бере участь у транскрипції генів, що сприяють апоптозу — P21, PUMA, NOXA та Bax [18]. І якщо у випадку канцерогенезу цей протеїн є захисним фактором, бо сприяє знищенню дефектних клітин, то в інших умовах він призводить до посилення фіброгенезу. Так, його синтез збільшується при інтенсивному запаленні на фоні зниження продукції антиапоптотичного білка Bcl-2 при неалкогольному стеатогепатиті. Результати досліджень X.L. Guo, B. Liang, X.W. Wang та співавт. показали, що при тіоацетамід-індукованому печінковому фіброзі та цирозі відбувається активація p53, у результаті чого збільшується вміст каспази-3, білків Bax та Bad. ГЛ супресує активність p53, результатом чого є зростання Bcl-2 — блокатора апоптотичного білка Bax та відповідне зменшення Bax [19].

І навпаки, ГЛ дозозалежно індукує апоптоз ПЗ шляхом блокування транслокації NF- κ B до ядра. Так, експеримент *in vitro* виявив, що ГЛ впливає на клітинний цикл, пригнічуючи фазу циклу G2/M, а саме кінцевий етап підготовки клітини до ділення, саме в такий спосіб індукуючи апоптоз ПЗК. NF- κ B — ключовий компонент клітинної відповіді на велику кількість екстрацелюлярних стимулів. Оскільки цей протеїн є потужним транскрипційним фактором в активації ПЗК, його пригнічення призводить до зниження вищезазначеної фази мітозу та може викликати запрограмовану смерть зірчастих клітин [20].

При фіброзі існує дисбаланс між деградацією та продукцією позаклітинного матриксу, у результаті чого значно підвищується рівень колагену I та III типів. Активіація ПЗК призводить до переходу їх в особливий проліферативний, фіброгенний стан, у якому ці клітини можуть синтезувати велику кількість колагену вищезазначених типів, що відкладається в субендотеліальному просторі Діссе [1, 21]. Головним медіатором у формуванні матриксу є фактор росту сполучної тканини (CTGF), що синтезується як гепатоцитами, так і ПЗК. CTGF також відіграє роль в епітеліально-мезенхімальному переході та збільшенні кількості фібробластів [22]. У дослідженні Bo Liang, Xiao-Ling Guo, Jing Jin та співавт. виявлено, що експресія колагену та відкладання його у вигляді сполучної тканини після дії CCl_4 значно підвищувалися, а після лікування ГЛ вірогідно знижувались порівняно із групою, яка не отримувала препарат. Це супроводжувалось зниженням експресії CTGF [17].

TGF- β 1 є іншим найбільш профіброгенним цитокіном, що поряд із CTGF стимулює перехід ПЗК у активний стан — міофібробластоподібний фенотип, експресію колагену I типу та модулює гомеостаз ключових елементів ЕЦМ [23]. Підвищення в тканинах TGF- β 1 при фіброгенезі вже доведено численними дослідженнями. Castilla et al. встановили, що експресія мРНК TGF- β 1

тісно корелює з експресією мРНК проколагену I, III типу та індексом гістологічної активності [24]. Y. Qu, L. Zong, M. Xu з колегами в експерименті на щурах показали, що ГЛ пригнічує транскрипцію мРНК та синтез цих видів колагену у цитоплазмі гепатоцитів за рахунок руйнування сигнальних шляхів TGF- β /Smad [25].

ГЛ є потужним антифібротичним засобом і завдяки впливу на імунні клітини. Так, C.T. Tu, J. Li, F.P. Wang досліджували ефект ГЛ на Т-клітини в печінці та селезінці мишей в експерименті після дії конканаваліну протягом 8 тижнів. Миші, які отримували ГЛ, були захищені від печінкового запалення та фіброзу. ГЛ запобігав інфільтрації Т-хелперами (Th) 1, 2, 17 типів та регуляторними Т-клітинами (Treg) печінки та селезінки в моделі мишачого фіброзу, регулював баланс лімфоцитів Th1/Th2 та Treg/Th17 із відносним домінуванням в печінці ліній Th1 і Treg. Крім того, під дією ГЛ підвищувалися рівні антифібротичних цитокінів інтерферону γ (IFN- γ) та інтерлейкіну (IL) 10. Автори показали вплив ГЛ на сигнальні шляхи, завдяки яким регулюється транскрипція цитокінів та синтез мРНК у ядрі гепатоцитів [26].

У процесі синтезу міофібробластами патологічного колагену відбувається деградація нормального матриксу в екстрацелюлярному просторі. Так, активовані ПЗК генерують металопротеїнази (МПП) 2, 3, 9, які руйнують базальну мембрану, відбувається додаткове залучення запальних клітин до місця ураження [27–29]. У вищевказаному дослідженні Bo Liang, Xiao-Ling Guo, Jing Jin та співавт. було показано, що лікування ГЛ зменшувало експресію цих металопротеїназ, призводило до зниження запальних сигналів та запобігало пошкодженню ендотелію у просторі Діссе [17].

Гліциризин при фіброзі печінки вірусного походження

Відомо, що хронічне ураження гепатотропними вірусами — один із головних факторів ризику фіброзу печінки [30]. Незважаючи на розвиток ефективних противірусних засобів прямої дії, популяційні рівні ерадикації неможливо буде досягнути ще декілька десятиріч. Тому гальмування фіброзу печінки в цієї категорії пацієнтів ще залишається досить актуальною задачею. Вірусні гени та протеїни можуть прямо або побічно впливати на активацію ПЗК. І хоча вірус гепатиту С не інфікує саме ПЗК, його ядерні та структурні протеїни індукують запальні та профібротичні шляхи, що діють на ПЗК. Вірус С впливає на активність ПЗК, а отже, і на фіброгенез за допомогою декількох механізмів. Ядерний антиген вірусу стимулює експресію інтерлейкіну-34 та фактора росту макрофагів (M-CSF). Ці два цитокіни промотують дозрівання периферичних моноцитів до макрофагів, а останні, у свою чергу, є стимуляторами ПЗК за допомогою TGF- β 1 та фактора росту тромбоцитів бета (PDGF- β). Крім того, макрофаги роблять внесок у розвиток фіброзу, стимулюючи синтез матриксної металопротеїнази 1 (MMP-1) та пригнічуючи синтез антифіброгенного цитокіну — IFN- γ натуральними кілерами (NK) [31, 32]. Крім того,

фрагменти вірусу С стимулюють експресію протеїну позаклітинного матриксу — тромбоспондину-1, що впливає на жорсткість ЕЦМ, та поглиблюють явища ПГ [33, 35].

Щодо гепатиту, асоційованого з вірусом В, то, як показано в експериментальних дослідженнях, фрагмент ядерної оболонки вірусу — НВеАг безпосередньо індукуює активацію та проліферацію ПЗК у шурів *in vitro* через TGF β , а ядерні протеїни core та Х активують клітини людини LX-2 через фактор росту тромбоцитів (PDGFB) [34].

Нормалізація рівня трансаміназ у хворих на хронічний гепатит С (ХГС) після лікування ГЛ була продемонстрована ще у 90-х роках [36, 37]. Внутрішньовенне введення ГЛ знижувало рівні печінкових ензимів та клітинне ураження в інфікованих пацієнтів [37, 38]. У дослідженні Melhem та співавт. 50 пацієнтів із ХГС протягом 20 тижнів перорально отримували суміш семи антиоксидантів (ГЛ, шизандра, силімарин, ліпоева кислота, аскорбінова кислота, L-глутатіон та альфа-токоферол), що супроводжувалось внутрішньовенним введенням ГЛ двічі на тиждень протягом перших 10 тижнів. У пацієнтів відмічалось зниження активності печінкових ферментів до нормальних рівнів у 44 % випадків, 25 % хворих продемонстрували зниження вірусного навантаження більше ніж на один логарифм. Гістологічне покращення було зафіксовано у 36,1 % пацієнтів [39].

Дослідження, що проводились у країнах Азії та Європи, довели, що використання ГЛ у пацієнтів із ХГС призводило до зменшення некрозапалення та активності трансаміназ. Ефект спостерігався також у пацієнтів із відсутністю відповіді на терапію інтерферонами. Зниження рівня трансаміназ було швидким, лінійним та стійким у режимі три інфузії на тиждень при різній тривалості терапії [36, 37, 40]. Автори дослідження пов'язували ефект із прямим зв'язуванням ГЛ із компонентом клітинних мембран — ліпокортину-1. Крім того, ГЛ бере участь у фосфорилляції таких прозапальних ензимів, як фосфоліпаза A2, що є початковим ферментом у метаболічній системі арахідонової кислоти, та ліпоксигеназа, яка сприяє продукції запальних медіаторів. У подальшому ГЛ та його похідні інгібують продукцію хемокінів IL-8 та еотаксину, які є потужними хемоатрактантами, що посилюють запалення, залучаючи до нього лейкоцити [41].

Більша частина інформації щодо дії похідних гліциризинової кислоти отримана в країнах Азії. Але одне з найбільших та триваліших проспективних досліджень було проведене на європейських пацієнтах. Вивчалась ефективність застосування ГЛ у хворих на ХГС, які або не отримали відповідь на стандартну в той час терапію інтерферонами та рибавирином, або мали протипоказання до цієї терапії. Ця третя фаза клінічних випробувань ГЛ проходила у 73 центрах 11 європейських країн (Україна в їх числі) за участю 379 пацієнтів протягом 4 років (із жовтня 2002 по квітень 2006). Першою фазою 52-тижневого курсу було 12 тижнів подвійного сліпого, другою — 40 тижнів відкритого дослідження ГЛ. Із

плацебо порівнювалось 3- та 5-разове внутрішньовенне введення препарату. Число пацієнтів із зниженням АЛТ більше 50 % після 12 тижнів було вірогідно більшим незалежно від кратності введення ГЛ порівняно з плацебо: 5 разів на тиждень у 28,7 % хворих ($p < 0,0001$), 3 рази на тиждень — у 29,0 % пацієнтів ($p < 0,0001$) та в групі плацебо — у 7,0 %. Частка від загальної кількості хворих зі зменшенням некрозапалення після 52 тижнів становила 44,9 % із 5-тижневим та 46,0 % — із 3-тижневим введенням препарату відповідно. Переносимість ГЛ була задовільною протягом усього тривалого періоду лікування [42].

Тривале, протягом 12 місяців, внутрішньовенне введення препарату, до складу якого входить ГЛ, продемонструвало позитивний ефект щодо регресу хронічного гепатиту В (ХГВ) ще у 1992 р. У половини хворих, у яких визначався позитивний НВеАг, виникла сероконверсія в антитіла, а гістологічне дослідження виявило зниження активності захворювання [43]. Тим не менше дослідженнями Н. Sato, W. Goto, J. Yamamura, M. Kurogawa та співавт. визначено, що тільки певна концентрація ГЛ здатна пригнічувати експресію гепатоцитами HBsAg. Саме тому автори вважають більш доцільним внутрішньовенне введення препарату при лікуванні ХГВ замість його ентерального призначення [44]. Дванадцять років потому китайські вчені вивчали вплив різних доз ГЛ на експресію НВеАг, Toll-like-рецепторів 2, 4 та зміну кількості ДНК вірусу в експерименті. Учені дійшли висновку, що ГЛ у різних дозах може як промотувати, так і пригнічувати синтез антигенів та реплікацію вірусу [45].

У 2017 році опубліковані результати дії ГЛ на показники виживаності у 60 хворих із гострою декомпенсацією ХГВ. Пацієнти були розподілені на групи: перша отримувала специфічне лікування (тенофовір) та ГЛ, друга — тільки ГЛ. Первинна кінцева точка оцінювалася за рівнем трансаміназ та моделлю кінцевої стадії захворювань печінки (MELD); вторинною кінцевою точкою була загальна смертність або необхідність у трансплантації печінки. Був зроблений висновок про безпеку та ефективність додавання ГЛ до основного лікування при гострій декомпенсації [46].

Спільне використання ентекавіру із ГЛ демонструє більш значущий терапевтичний ефект та більш низькі рівні печінкового ураження навіть в імунодепресивних пацієнтів після хіміотерапії [47]. Вивченням змін фармакокінетики ентекавіру, його розподілення у тканинах та клітинах при додатковому використанні ГЛ та причин синергізму цих двох препаратів зайнялись Q. Chen, H. Chen, W. Wang із колегами. Було показано, що первинний активний метаболіт ГЛ — гліциризинова кислота не впливає на фармакокінетику ентекавіру, але сприяє акумуляції препарату в гепатоцитах, збільшує його розподілення в цитоплазмі та ядрах, чим посилює противірусну активність. Ця синергетична активність відбувається насамперед унаслідок інгібуючого ефекту гліциризинової кислоти на мембранні білки-транспортери MRP4 та BCRP, які виводять ентекавір із гепатоцитів [48].

ГЛ та запобігання розвитку гепатоцелюлярної карциноми

Існують дані про зменшення випадків гепатоцелюлярної карциноми (ГЦК) при тривалому використанні ГЛ [49, 50]. Його роль у пригніченні канцерогенезу полягає в здатності впливати на активність факторів транскрипції AP-1/TATA, які блокують синтез дефектних клітин із злоякісним потенціалом [51]. Експериментальні дослідження Shiota et al. на моделі канцерогенезу (під впливом гепатотоксину діетилнітрозаміну) продемонстрували, що активність АСТ і рівні альбуміну вірогідно покращувались, а випадки ГЦК були нижчими у групі тварин, що додатково отримувала ГЛ [52].

Звісно, що проспективні спостереження за розвитком ГЦК на людях утруднені за етичними та медичними чинниками. Саме тому більшість досліджень за участю хворих мають ретроспективний характер.

У мультицентровому подвійному сліпому дослідженні вивчався вплив інфузій Stronger Neo-Minophagen (SNMC) — препарату, що містить ГЛ, на біохімічну активність та частоту розвитку цирозу печінки та ГЦК (період спостереження 13–15 років) у пацієнтів із хронічними вірусними гепатитами. Активність АЛТ зменшувалась у пацієнтів, які отримували SNMC в дозі 40 мл/добу протягом 4 тижнів вірогідно більшою мірою ($p < 0,001$), ніж у групі контролю, що отримувала плацебо. Введення SNMC в дозі 100 мл/добу протягом 8 тижнів покращувало печінкову гістологію в 40 пацієнтів із хронічним гепатитом паралельно із покращенням рівня АЛТ. Цироз печінки реєструвався менш часто в 178 пацієнтів після тривалого вживання SNMC, ніж у 100 хворих групи контролю (28 проти 40 % до 13 року спостереження, $p < 0,002$). Випадки ГЦК реєструвалися значно рідше у групі пацієнтів з тривалим вживанням SNMC, ніж у 109 хворих групи контролю (13 проти 25 % після 15 років спостереження, $p < 0,002$) [36, 49].

Ikeda ретроспективно проаналізував дані 346 пацієнтів із хронічними гепатитами з високою біохімічною активністю, 244 із яких отримали ін'єкції ГЛ. Рівні канцерогенезу в групі пролікованих та нелікованих становили 13,3 та 26,9 % через 5 років та 21,5 і 35,5 % — після 10 років спостереження відповідно [53].

Метою дослідження було оцінити ефективність ГЛ у зниженні числа випадків ГЦК протягом тривалого спостереження після відсутньої відповіді. Нідерландськими вченими було проаналізовано дані пацієнтів 12 великих японських госпіталів між 1990 та 1995 роками, які не продемонстрували стійкої відповіді на інтерферонотерапію. Дослідження включало 1093 пацієнти. Протягом нетривалого періоду спостереження (у середньому $6,1 \pm 1,8$ року) у 107 пацієнтів розвинулася ГЦК. За допомогою Кокс-регресивного аналізу було показано, що вік, чоловіча стать, високі рівні АЛТ та виражений фіброз були асоційованими з ризиком розвитку ГЦК. У той же час відповідь на лікування ГЛ, що була визначена як зниження АЛТ до рівня менше ніж 1,5 верхньої межі норми, вірогідно асоціювалася зі зниженням числа випадків ГЦК: співвідношення ризику становило 0,39 (95% довірчий інтервал (ДІ) 0,21–

0,72; $p < 0,01$). Дослідження показало, що у хворих на ХГС із фіброзом 3 та 4 стадії та відсутньою вірусологічною відповіддю на інтерферонотерапію вживання ГЛ може зменшити частоту ГЦК за умови нормалізації на терапії рівнів АЛТ [50].

Таким чином, гліциризин, як основна діюча речовина екстракту кореня солодки, є потужним антифібротичним засобом, що втілює терапевтичну дію через пригнічення активації головних продуцентів патологічного ЕЦМ. Основними властивостями ГЛ є пригнічення апоптозу гепатоцитів та збільшення апоптозу активованих зірчастих клітин шляхом впливу на експресію патологічних цитокінів, зменшення некрозапалення та гальмування канцерогенезу.

На вітчизняному фармацевтичному ринку гліциризин представлений під торговою назвою Гепаризин, випускається у 2 формах — ампули (містять 40 мг гліциризину, 400 мг гліцину, 20 мг цистеїну) і капсули (25 мг гліциризину, 25 мг гліцину, 25 мг метіоніну).

Уведення гліцину до складу Гепаризину перешкоджає виникненню побічних ефектів при тривалій терапії та посилює антиоксидантну дію; цистеїн/метіонін інактивують вільні радикали й покращують переносимість препарату.

Гепаризин чинить гепатопротекторну, протизапальну, антифібротичну, антиоксидантну, антиканцерогенну, противірусну й імунomodуючу дію та рекомендований для ефективної та безпечної профілактики/лікування фіброзу печінки, цирозу печінки та ГЦК.

Конфлікт інтересів. Не заявлений.

References

1. Böttcher K, Pinzani M. Pathophysiology of liver fibrosis and the methodological barriers to the development of anti-fibrogenic agents. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017 Nov 1;121:3-8. doi: 10.1016/j.addr.2017.05.016.
2. Arthur MJ, Mann DA, Iredale JP. Tissue inhibitors of metalloproteinases, hepatic stellate cells and liver fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol.* 1998 Sep;13 Suppl:S33-8.
3. Gressner AM, Bachem MG. Molecular mechanisms of liver fibrogenesis – a homage to the role of activated fat-storing cells. *Digestion.* 1995;56(5):335-46. DOI: 10.1159/000201257.
4. García-Pagán JC, Gracia-Sancho J, Bosch J. Functional aspects on the pathophysiology of portal hypertension in cirrhosis. *J Hepatol.* 2012 Aug;57(2):458-61. doi: 10.1016/j.jhep.2012.03.007.
5. Kisseleva T, Brenner DA. The phenotypic fate and functional role for bone marrow-derived stem cells in liver fibrosis. *J Hepatol.* 2012 Apr;56(4):965-72. doi: 10.1016/j.jhep.2011.09.021.
6. Li Y, Wang J, Asahina K. Mesothelial cells give rise to hepatic stellate cells and myofibroblasts via mesothelial-mesenchymal transition in liver injury. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013 Feb 5;110(6):2324-9. doi: 10.1073/pnas.1214136110.
7. Higashi T, Friedman SL, Hoshida Y. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017 Nov 1;121:27-42. doi: 10.1016/j.addr.2017.05.007.
8. Scholten DJ, Weiskirchen R. Questioning the challenging role of epithelial-to-mesenchymal transition in liver injury. *Hepatology.* 2011

Mar;53(3):1048-51. doi: 10.1002/hep.24191.

9. Chu AS, Diaz R, Hui JJ, et al. Lineage tracing demonstrates no evidence of cholangiocyte epithelial-to-mesenchymal transition in murine models of hepatic fibrosis. *Hepatology*. 2011 May;53(5):1685-95. doi: 10.1002/hep.24206.

10. Friedman SL. Mechanisms of Hepatic Fibrogenesis. *Gastroenterology*. 2008 May;134(6):1655-69. doi: 10.1053/j.gastro.2008.03.003.

11. Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev*. 2008 Jan;88(1):125-72. doi: 10.1152/physrev.00013.2007.

12. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem*. 2000 Jan 28;275(4):2247-50.

13. Li JT, Liao ZX, Ping J, Xu D, Wang H. Molecular mechanism of hepatic stellate cell activation and antifibrotic therapeutic strategies. *J Gastroenterol*. 2008;43(6):419-28. doi: 10.1007/s00535-008-2180-y.

14. Wang L, Yang R, Yuan B, Liu Y, Liu C. The antiviral and antimicrobial activities of licorice, a widely-used Chinese herb. *Acta Pharm Sin B*. 2015 Jul;5(4):310-5. doi: 10.1016/j.apsb.2015.05.005.

15. Dixon LJ, Berk M, Thapaliya S, Papouchado BG, Feldstein AE. Caspase-1-mediated regulation of fibrogenesis in diet-induced steatohepatitis. *Lab Invest*. 2012 May;92(5):713-23. doi: 10.1038/labinvest.2012.45.

16. Thapaloya S, Wree A, Povero D, et al. Caspase 3 inactivation protects against hepatic cell death and ameliorates fibrogenesis in a diet-induced NASH model. *Dig Dis Sci*. 2014 Jun;59(6):1197-206. doi: 10.1007/s10620-014-3167-6.

17. Liang B, Guo XL, Jin J, Ma YC, Feng ZQ. Glycyrrhizic acid inhibits apoptosis and fibrosis in carbon-tetrachloride-induced rat liver injury. *World J Gastroenterol*. 2015 May 7;21(17):5271-80. doi: 10.3748/wjg.v21.i17.5271.

18. Vousden KH, Lu X. Live or let die: the cell's response to p53. *Nat Rev Cancer*. 2002 Aug;2(8):594-604. doi: 10.1038/nrc864.

19. Guo XL, Liang B, Wang XW, et al. Glycyrrhizic acid attenuates CCl₄-induced hepatocyte apoptosis in rats via a p53-mediated pathway. *World J Gastroenterol*. 2013 Jun 28;19(24):3781-91. doi: 10.3748/wjg.v19.i24.3781.

20. Qu Y, Chen WH, Zong L, Xu MY, Lu LG. 18 α -Glycyrrhizin induces apoptosis and suppresses activation of rat hepatic stellate cells. *Med Sci Monit*. 2012 Jan;18(1):BR24-32.

21. Karsdal MA, Nielsen SH, Leeming DJ, et al. The good and the bad collagens of fibrosis—Their role in signaling and organ function. *Adv Drug Deliv Rev*. 2017 Nov 1;121:43-56. doi: 10.1016/j.addr.2017.07.014.

22. Gressner OA, Lahme B, Demirci I, Gressner AM, Weiskirchen R. Differential effects of TGF- β on connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) expression in hepatic stellate cells and hepatocytes. *J Hepatol*. 2007 Nov;47(5):699-710. DOI: 10.1016/j.jhep.2007.05.015.

23. Gomes LR, Terra LF, Wailemann RA, Labriola L, Sogayar MC. TGF- β 1 modulates the homeostasis between MMPs and MMP inhibitors through p38 MAPK and ERK1/2 in highly invasive breast cancer cells. *BMC Cancer*. 2012 Jan 19;12:26. doi: 10.1186/1471-2407-12-26.

24. Castilla A, Prieto J, Fausto N. Transforming Growth Factors β 1 and α in Chronic Liver Disease Effects of Interferon Alfa Therapy. *N Engl J Med*. 1991 Apr 4;324(14):933-40. doi: 10.1056/NEJM199104043241401.

25. Qu Y, Zong L, Xu M, Dong Y, Lu L. Effects of 18 α -glycyrrhizin on TGF- β 1/Smad signaling pathway in rats with carbon tetrachloride-induced liver fibrosis. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015 Feb 1;8(2):1292-301.

26. Tu CT, Li J, Wang FP, Li L, Wang JY, Jiang W. Glycyrrhizin regulates CD4⁺T cell response during liver fibrogenesis via JNK, ERK and PI3K/AKT pathway. *Int Immunopharmacol*. 2012 Dec;14(4):410-21. doi: 10.1016/j.intimp.2012.08.013.

27. Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol*. 2008 Jan;214(2):199-210. doi: 10.1002/path.2277.

28. Brenner DA. Molecular pathogenesis of liver fibrosis. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2009;120:361-8.

29. Cohen-Naftaly M, Friedman SL. Current status of novel antifibrotic therapies in patients with chronic liver disease. *Therap Adv Gastroenterol*. 2011 Nov;4(6):391-417. doi: 10.1177/1756283X11413002.

30. Stanaway JD, Flaxman AD, Naghavi M, et al. The global burden of viral hepatitis from 1990 to 2013: findings from the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2016 Sep 10;388(10049):1081-1088. doi: 10.1016/S0140-6736(16)30579-7.

31. Preisser L, Miot C, Le Guillou-Guillemette H, et al. IL-34 and macrophage colony-stimulating factor are overexpressed in hepatitis C virus fibrosis and induce profibrotic macrophages that promote collagen synthesis by hepatic stellate cells. *Hepatology*. 2014 Dec;60(6):1879-90. doi: 10.1002/hep.27328.

32. Presser LD, McRae S, Waris G. Activation of TGF- β 1 promoter by hepatitis C virus-induced AP-1 and Sp1: role of TGF- β 1 in hepatic stellate cell activation and invasion. *PLoS One*. 2013;8(2):e56367. doi: 10.1371/journal.pone.0056367.

33. Benzoubir N, Lejantel C, Battaglia S, et al. HCV core-mediated activation of latent TGF- β via thrombospondin drives the cross-talk between hepatocytes and stromal environment. *J Hepatol*. 2013 Dec;59(6):1160-8. doi: 10.1016/j.jhep.2013.07.036.

34. Zan Y, Zhang Y, Tien P. Hepatitis B virus e antigen induces activation of rat hepatic stellate cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Jun 7;435(3):391-6. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.04.098.

35. Lozano-Sepulveda SA, Bryan-Marrugo OL, Cordova-Fletes C, Gutierrez-Ruiz MC, Rivas-Estilla AM. Oxidative stress modulation in hepatitis C virus infected Cells. *World J Hepatol*. 2015 Dec 18;7(29):2880-9. doi: 10.4254/wjh.v7.i29.2880.

36. Arase Y, Ikeda K, Murashima N, et al. The long term efficacy of glycyrrhizin in chronic hepatitis C patients. *Cancer*. 1997 Apr 15;79(8):1494-500.

37. van Rossum TG, Vulto AG, Hop WC, Brouwer JT, Niesters HG, Schalm SW. Intravenous glycyrrhizin for the treatment of chronic hepatitis C: a double-blind, randomized, placebo-controlled phase I/II trial. *J Gastroenterol Hepatol*. 1999 Nov;14(11):1093-9. doi: 10.1046/j.1440-1746.1999.02008.x.

38. Abe Y, Ueda T, Kato T, Kohli Y. Effectiveness of interferon, glycyrrhizin combination therapy in patients with chronic hepatitis C. *Nihon Rinsho*. 1994 Jul;52(7):1817-22.

39. Melhem A, Stern M, Shibolet O, et al. Treatment of chronic hepatitis C virus infection via antioxidants: results of a phase I clinical trial. *J Clin Gastroenterol*. 2005 Sep;39(8):737-42. doi: 10.1097/01.mcg.0000174023.7347.

40. Orlent H, Hansen BE, Willems M, et al. Biochemical and histological effects of 26 weeks of glycyrrhizin treatment in chronic hepatitis C: a randomized phase II trial. *J Hepatol*. 2006 Oct;45(4):539-46. doi: 10.1016/j.jhep.2006.05.015.

41. Matsui S, Matsumoto H, Sonoda Y, et al. Glycyrrhizin and related compounds down-regulate production of inflammatory chemokines IL-8 and eotaxin 1 in a human lung fibroblast cell line. *Int Immunopharmacol*. 2004 Dec 15;4(13):1633-44. doi: 10.1016/j.intimp.2004.07.023.

42. Manns MP, Wedemeyer H, Singer A, et al. Glycyrrhizin in patients who failed previous interferon alpha-based therapies: biochemical

and histological effects after 52 weeks. *J Viral Hepat.* 2012 Aug;19(8):537-46. doi: 10.1111/j.1365-2893.2011.01579.x.

43. Eisenburg J. Treatment of chronic hepatitis B. Part 2: Effect of glycyrrhizic acid on the course of illness. *Fortschr Med.* 1992 Jul 30;110(21):395-8. (in German).

44. Sato H, Goto W, Yamamura J, et al. Therapeutic basis of glycyrrhizin on chronic hepatitis B. *Antiviral Res.* 1996 May;30(2-3):171-7.

45. Li YW, Yang HZ, Ke QS, Chen W, Chen XJ. Effects of glycyrrhizin on the expression of hepatitis B virus and Toll like receptors 2,4 in HepG2.2.15 cells expressing low HBsAg. *Zong Yao Cai* 2008 Mar;31(3):403-7. (in Chinese).

46. Hung CH, Kee KM, Chen CH, et al. A Randomized Controlled Trial of Glycyrrhizin Plus Tenofovir vs. Tenofovir in Chronic Hepatitis B with Severe Acute Exacerbation. *Clin Transl Gastroenterol.* 2017 Jun 29;8(6):e104. doi: 10.1038/ctg.2017.29.

47. Kang FB, Wang L, Sun DX. Hepatitis B virus infection in an HBsAb-positive lymphoma patient who received chemotherapy: A case report. *Medicine (Baltimore).* 2017 Nov;96(44):e8518. doi: 10.1097/MD.00000000000008518.

48. Chen Q, Chen H, Wang W, et al. Glycyrrhetic acid, but not glycyrrhizic acid, strengthened entecavir activity by promoting its subcellular distribution in the liver via efflux inhibition. *Eur J Pharm Sci.*

2017 Aug 30;106:313-327. doi: 10.1016/j.ejps.2017.06.015.

49. Kumada H. Long-term treatment of chronic hepatitis C with glycyrrhizin [stronger neo-minophagen C (SNMC)] for preventing liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Oncology.* 2002;62 Suppl 1:94-100. doi: 10.1159/000048283.

50. Veldt BJ, Hansen BE, Ikeda K, Verhey E, Suzuki H, Schalm SW. Long-term clinical outcome and effect of gly-cyrrhizin in 1093 chronic hepatitis C patients with non-response or relapse to interferon. *Scand J Gastroenterol.* 2006 Sep;41(9):1087-94. doi: 10.1080/00365520600641365.

51. Hsiang CY, Lai IL, Chao DC, Ho TY. Differential regulation of activator protein 1 activity by glycyrrhizin. *Life Sci.* 2002 Feb 22;70(14):1643-56.

52. Shiota G, Harada K, Ishida M, et al. Inhibition of hepatocellular carcinoma by glycyrrhizin in diethylnitrosamine-treated mice. *Carcinogenesis.* 1999 Jan;20(1):59-63. doi: 10.1093/carcin/20.1.59.

53. Ikeda K. Glycyrrhizin injection therapy prevents hepatocellular carcinogenesis in patients with interferon-resistant active chronic hepatitis C. *Hepatol Res.* 2007 Sep;37 Suppl 2:S287-93. doi: 10.1111/j.1872-034X.2007.00199.x.

Отримано 03.06.2018 ■

Степанов Ю.М.¹, Ягмур В.Б.¹, Саленко А.В.²

¹ ГУ «Інститут гастроентерології НАМН України», г. Дніпр, Україна

² Государственное учреждение «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Дніпр, Україна

Глицирризиновая кислота: патофизиологические аспекты формирования фиброза и эффективность в лечении болезней печени

Резюме. В обзорной статье приведены современные данные относительно факторов возникновения и развития фиброза печени. Это состояние обусловлено чрезмерным накоплением внеклеточного матрикса, продуцентом которого являются преимущественно печеночные звездчатые клетки, которые при активации приобретают возможность продуцировать патологический коллаген I и III типов. Откладывание фибриллярной ткани и коллагена в пространстве Диссе приводит к появлению базальной мембраны в эпителии синусоидов, в результате чего происходит их капилляризация. Портальная гипертензия усугубляется возникновением эндотелиальной дисфункции и патологической продукцией вазоконстрикторов. Дальнейшее прогрессирование фиброза печени является фактором риска возникновения цирроза и даже гепатоцел-

люлярной карциномы. Приведены данные исследований антифибротических свойств глицирризина — препарата растительного происхождения. Почти 40-летняя история официального изучения доказала его противовоспалительные, противовирусные, антифибротические свойства. Терапевтический эффект глицирризина осуществляется благодаря воздействию на иммунные клетки, торможению апоптоза гепатоцитов, а также ускорению апоптоза патологически активированных звездчатых клеток. Избирательным влиянием на факторы транскрипции можно объяснить антиканцерогенный эффект препарата при длительном течении вирусных гепатитов.

Ключевые слова: фиброз; глицирризин; апоптоз; печеночные звездчатые клетки; коллаген; канцерогенез; обзор

Yu.M. Stepanov¹, V.B. Yagmur¹, A.V. Salenko²

¹ State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine

² State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine

Glycyrrizinic acid: pathophysiological aspects of fibrosis formation and effectiveness in treatment of liver diseases

Abstract. The review article presents current data on the causes of the onset and development of liver fibrosis. This condition is due to excessive accumulation of the extracellular matrix, the producer of which is mainly hepatic stellate cells that, upon activation, can produce pathological collagen types I and III. The deposition of fibrillar tissue and collagen in the Disse space leads to the appearance of a basal membrane in the epithelium of the sinusoids that results in their capillarization. Portal hypertension is aggravated by endothelial dysfunction and pathological production of vasoconstrictors. Further progression of liver fibrosis is a risk factor for cirrhosis and even hepatocellular carcinoma. The

data of studies on antifibrotic properties of glycyrrhizin, a herbal preparation, are given. Almost 40-year history of official study has proved its anti-inflammatory, antiviral, antifibrotic properties. The therapeutic effect of glycyrrhizin is due to the impact on immune cells, inhibition of hepatocyte apoptosis, and, on the contrary, to the acceleration of apoptosis of pathologically activated stellate cells. A selective influence on the transcription factors can explain the anticarcinogenic effect of the drug in case of chronic course of viral hepatitis.

Keywords: fibrosis; glycyrrhizin; apoptosis; hepatic stellate cells; collagen; carcinogenesis; review